



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109142741 A

(43)申请公布日 2019.01.04

(21)申请号 201810773641.9

(22)申请日 2018.07.15

(71)申请人 爱必信(上海)生物科技有限公司
地址 201314 上海市浦东新区古丹路15弄
18号楼2楼

(72)发明人 郭惠芳

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书4页

(54)发明名称

一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法

(57)摘要

本发明涉及一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法,其特征在于包括样品缓冲液、孵育缓冲液、上样缓冲液和免疫球蛋白检定缓冲液;具有灵敏度高、抗干扰能力强及经济实用等特点,可广泛应用于医药卫生及卫生防疫等领域,为深入的进行分子生物学,分子肿瘤学、细胞生物学、生物化学等学科的研究提供了有益的帮助。

1. 本发明涉及一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法,其特征在于:

包括样品缓冲液、孵育缓冲液、上样缓冲液和免疫球蛋白检定缓冲液;

所述各组分按重量份配比为:所述样品缓冲液15-25份,所述免疫球蛋白检定缓冲液15-25份,所述孵育缓冲液40-60份,所述孵育缓冲液25-10份,所述上样缓冲液15-25份;

所述样品缓冲液由15mMNP-40溶液、15mM钒酸钠溶液、15mMPBS溶液、15mM氟化钠溶液、15mM磷酸氢钾溶液、250mM盐酸溶液和40mM氯化钠溶液调配制成;

以所述样品缓冲液为150重量份,所述15mMNP-40溶液的含量比例优选15-25重量份范围;所述15mM钒酸钠溶液的含量比例优选8-25重量份范围;所述15mMPBS溶液的含量比例优选5-15重量份范围;所述15mM氟化钠溶液的含量比例优选5-15重量份范围;所述15mM磷酸氢钾溶液的含量比例优选25-40重量份范围;用所述250mM的盐酸溶液的含量比例优选2-8重量份范围;余下部分为所述40mM氯化钠溶液;

所述孵育缓冲液由5mM氟化钠溶液、10mM甘油、10mM焦磷酸钠酶抑制剂、5mM亮肽酶素溶液、10mM蛋白酶抑制剂和10mM氯化钠溶液调配制成;

以孵育缓冲液为100重量份,10mM氟化钠的含量比例优选2-8重量份范围;20mM甘油的含量比例优选10-35重量份范围;10mM焦磷酸钠酶抑制剂的含量比例优选1-5重量份范围;30mM亮肽酶素溶液的含量比例优选1.5-8重量份范围;15mM蛋白酶抑制剂的含量比例优选0.5-2.5重量份范围;余下部分为10mM氯化钠溶液;

所述上样缓冲液由25mM硝基苯酚溶液、15mMSDS溶液、次血红素和15mM氯化钠溶液调配制成;以所述上样缓冲液为150重量份,所述25mM硝基苯酚溶液的含量比例优选25-35重量份范围;所述15mM SDS溶液的含量比例优选15-45重量份范围;所述次血红素的含量比例优选0.2-0.8重量份范围;余下部分为所述15mM氯化钠溶液。

所述免疫球蛋白检定缓冲液由25mMTween-80溶液、25mM氯化钠溶液、5mM氯化钠溶液、25mMPEG-6000溶液和25mM氯化钾溶液调配制成;

以所述蛋白质交联缓冲液为150重量份,所述25mMTween-80溶液的含量比例优选15-40重量份范围;所述25mM氯化钠溶液的含量比例优选2-15重量份范围;所述5mM氯化钠溶液的含量比例优选5-10重量份范围;所述25mMPEG-6000溶液的含量比例优选2-15重量份范围;余下部分为所述25mM氯化钾溶液;

一种免疫球蛋白含量检测试剂的使用方法,如以下步骤所示:

S1、测定5mM氯化钠溶液的吸光度为 B_1 ,将5mM氯化钠溶液和血清样本按照体积比50:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_1 ,将5mM氯化钠溶液和已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比50:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_1' ;

S2、测定所述免疫球蛋白含量检测试剂的吸光度为 B_2 ,将5mM氯化钠溶液、所述免疫球蛋白含量检测试剂、血清样本按照体积比:20:5:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_2 ,将5mM氯化钠溶液、所述免疫球蛋白含量检测试剂、已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比20:5:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_2' ;

S3、所述血清样本中所述免疫球蛋白含量,通过公式一计算:

$$D = \Delta A / \Delta A_s * C$$

其中：

D为所述血清样本中所述免疫球蛋白的浓度；

ΔA 为以空白管吸光度为对照的样本管吸光度,通过公式二计算：

$$\Delta A = (A_2 - A_1) - (B_2 - B_1)$$

ΔA_s 为以空白管吸光度为对照的已测标准样品吸光度,通过公式三计算：

$$\Delta A_s = (A_2' - A_1') - (B_2 - B_1)$$

C为已测标准样品中免疫球蛋白的浓度。

一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物学领域,具体涉及一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 免疫球蛋白指具有抗体活性或化学结构,与抗体分子相似的球蛋白。免疫球蛋白是由两条相同的轻链和两条相同的重链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构。免疫球蛋白分为五类,即免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白D(IgD)和免疫球蛋白E(IgE)。免疫系统由免疫组织、器官、免疫细胞及免疫活性分子等组成。免疫球蛋白是免疫活性分子中的一类,而免疫活性分子包括免疫细胞膜分子,如抗原识别受体、分化抗原、主要组织相容性分子以及一些其他受体分子等;也包括由免疫细胞和非免疫细胞合成和分泌的分子,如免疫球蛋白分子、补体分子以及细胞因子等。

[0003] 免疫球蛋白是一种常见的疾病标志物,目前免疫球蛋白检测方法很多,主要有放射免疫分析法、酶联免疫分析法、荧光免疫分析法等。其中放射免疫分析法有辐射,不安全;其他检测方法操作复杂,灵敏度不高,难以实现早期疾病的诊断与研究,且无法满足快速检测的需求。需要一种快速、灵敏、操作简便的免疫球蛋白含量检测试剂。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明提供了一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法,其特征在于:

[0005] 包括样品缓冲液、孵育缓冲液、上样缓冲液和免疫球蛋白检定缓冲液;

[0006] 各组分按重量份配比为:样品缓冲液15-25份,免疫球蛋白检定缓冲液15-25份,孵育缓冲液40-60份,孵育缓冲液25-10份,上样缓冲液15-25份;

[0007] 样品缓冲液由15mMNP-40溶液、15mM钒酸钠溶液、15mMPBS溶液、15mM氟化钠溶液、15mM磷酸氢钾溶液、250mM盐酸溶液和40mM氯化钠溶液调配制成;

[0008] 以样品缓冲液为150重量份,15mMNP-40溶液的含量比例优选15-25重量份范围;15mM钒酸钠溶液的含量比例优选8-25重量份范围;15mMPBS溶液的含量比例优选5-15重量份范围;15mM氟化钠溶液的含量比例优选5-15重量份范围;15mM磷酸氢钾溶液的含量比例优选25-40重量份范围;用250mM的盐酸溶液的含量比例优选2-8重量份范围;余下部分为40mM氯化钠溶液;

[0009] 孵育缓冲液由5mM氟化钠溶液、10mM甘油、10mM焦磷酸钠酶抑制剂、5mM亮氨酸酶素溶液、10mM蛋白酶抑制剂和10mM氯化钠溶液调配制成;

[0010] 以孵育缓冲液为100重量份,10mM氟化钠的含量比例优选2-8重量份范围;20mM甘油的含量比例优选10-35重量份范围;10mM焦磷酸钠酶抑制剂的含量比例优选1-5重量份范围;30mM亮氨酸酶素溶液的含量比例优选1.5-8重量份范围;15mM蛋白酶抑制剂的含量比例优选0.5-2.5重量份范围;余下部分为10mM氯化钠溶液;

[0011] 上样缓冲液由25mM硝基苯酚溶液、15mMSDS溶液、次血红素和15mM氯化钠溶液调配

制成;以上样缓冲液为150重量份,25mM硝基苯酚溶液的含量比例优选25-35重量份范围;15mM SDS溶液的含量比例优选15-45重量份范围;次血红素的含量比例优选0.2-0.8重量份范围;余下部分为15mM氯化钠溶液。

[0012] 免疫球蛋白检定缓冲液由25mMTween-80溶液、25mM氯化钠溶液、5mM氯化钠溶液、25mMPEG-6000溶液和25mM氯化钾溶液调配制成;

[0013] 以蛋白质交联缓冲液为150重量份,25mMTween-80溶液的含量比例优选15-40重量份范围;25mM氯化钠溶液的含量比例优选2-15重量份范围;5mM氯化钠溶液的含量比例优选5-10重量份范围;25mMPEG-6000溶液的含量比例优选2-15重量份范围;余下部分为25mM氯化钾溶液;

[0014] 一种免疫球蛋白含量检测试剂的使用方法,如以下步骤所示:

[0015] S1、测定5mM氯化钠溶液的吸光度为 B_1 ,将5mM氯化钠溶液和血清样本按照体积比50:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_1 ,将5mM氯化钠溶液和已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比50:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_1' ;

[0016] S2、测定免疫球蛋白含量检测试剂的吸光度为 B_2 ,将5mM氯化钠溶液、免疫球蛋白含量检测试剂、血清样本按照体积比:20:5:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_2 ,将5mM氯化钠溶液、免疫球蛋白含量检测试剂、已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比20:5:1进行混合,混合均匀后在37°C孵育5min,测定其吸光度为 A_2' ;

[0017] S3、血清样本中免疫球蛋白含量,通过公式一计算:

$$[0018] D = \Delta A / \Delta A_s * C$$

[0019] 其中:D为血清样本中免疫球蛋白的浓度;

[0020] ΔA 为以空白管吸光度为对照的样本管吸光度,通过公式二计算:

$$[0021] \Delta A = (A_2 - A_1) - (B_2 - B_1)$$

[0022] ΔA_s 为以空白管吸光度为对照的已测标准样品吸光度,通过公式三计算:

$$[0023] \Delta A_s = (A_2' - A_1') - (B_2 - B_1)$$

[0024] C为已测标准样品中免疫球蛋白的浓度。

[0025] 本发明的有益成果为:本发明提供了一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法,本发明具有灵敏度高、抗干扰能力强及经济实用等特点,可广泛应用于医药卫生及卫生防疫等领域,为深入的进行分子生物学,分子肿瘤学、细胞生物学、生物化学等学科的研究提供了有益的帮助。

具体实施方式

[0026] 为了使本发明所要解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚明白,以下结合实施例,对本发明进行详细的说明;应当说明的是,此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明,并不用于限定本发明,能实现同样功能的产品属于等同替换和改进,均包含在本发明的保护范围之内;具体方法如下:

[0027] 实施例:有鉴于此,本发明提供了一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法,其特征在于:

- [0028] 包括样品缓冲液、孵育缓冲液、上样缓冲液和免疫球蛋白检定缓冲液；
- [0029] 各组分按重量份配比为：样品缓冲液15-25份，免疫球蛋白检定缓冲液15-25份，孵育缓冲液40-60份，孵育缓冲液25-10份，上样缓冲液15-25份；
- [0030] 样品缓冲液由15mMNP-40溶液、15mM钒酸钠溶液、15mMPBS溶液、15mM氟化钠溶液、15mM磷酸氢钾溶液、250mM盐酸溶液和40mM氯化钠溶液调配制成；
- [0031] 以样品缓冲液为150重量份，15mMNP-40溶液的含量比例优选15-25重量份范围；15mM钒酸钠溶液的含量比例优选8-25重量份范围；15mMPBS溶液的含量比例优选5-15重量份范围；15mM氟化钠溶液的含量比例优选5-15重量份范围；15mM磷酸氢钾溶液的含量比例优选25-40重量份范围；用250mM的盐酸溶液的含量比例优选2-8重量份范围；余下部分为40mM氯化钠溶液；
- [0032] 孵育缓冲液由5mM氟化钠溶液、10mM甘油、10mM焦磷酸钠酶抑制剂、5mM亮肽酶素溶液、10mM蛋白酶抑制剂和10mM氯化钠溶液调配制成；
- [0033] 以孵育缓冲液为100重量份，10mM氟化钠的含量比例优选2-8重量份范围；20mM甘油的含量比例优选10-35重量份范围；10mM焦磷酸钠酶抑制剂的含量比例优选1-5重量份范围；30mM亮肽酶素溶液的含量比例优选1.5-8重量份范围；15mM蛋白酶抑制剂的含量比例优选0.5-2.5重量份范围；余下部分为10mM氯化钠溶液；
- [0034] 上样缓冲液由25mM硝基苯酚溶液、15mMSDS溶液、次血红素和15mM氯化钠溶液调配制成；以上样缓冲液为150重量份，25mM硝基苯酚溶液的含量比例优选25-35重量份范围；15mM SDS溶液的含量比例优选15-45重量份范围；次血红素的含量比例优选0.2-0.8重量份范围；余下部分为15mM氯化钠溶液。
- [0035] 免疫球蛋白检定缓冲液由25mMTween-80溶液、25mM氯化钠溶液、5mM氯化钠溶液、25mMPEG-6000溶液和25mM氯化钾溶液调配制成；
- [0036] 以蛋白质交联缓冲液为150重量份，25mMTween-80溶液的含量比例优选15-40重量份范围；25mM氯化钠溶液的含量比例优选2-15重量份范围；5mM氯化钠溶液的含量比例优选5-10重量份范围；25mMPEG-6000溶液的含量比例优选2-15重量份范围；余下部分为25mM氯化钾溶液；
- [0037] 一种免疫球蛋白含量检测试剂的使用方法，如以下步骤所示：
- [0038] S1、测定5mM氯化钠溶液的吸光度为 B_1 ，将5mM氯化钠溶液和血清样本按照体积比50:1进行混合，混合均匀后在37℃孵育5min，测定其吸光度为 A_1 ，将5mM氯化钠溶液和已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比50:1进行混合，混合均匀后在37℃孵育5min，测定其吸光度为 A_1' ；
- [0039] S2、测定免疫球蛋白含量检测试剂的吸光度为 B_2 ，将5mM氯化钠溶液、免疫球蛋白含量检测试剂、血清样本按照体积比:20:5:1进行混合，混合均匀后在37℃孵育5min，测定其吸光度为 A_2 ，将5mM氯化钠溶液、免疫球蛋白含量检测试剂、已知免疫球蛋白的浓度的已测标准样品按照体积比20:5:1进行混合，混合均匀后在37℃孵育5min，测定其吸光度为 A_2' ；
- [0040] S3、血清样本中免疫球蛋白含量，通过公式一计算：
- [0041] $D = \Delta A / \Delta A_s * C$
- [0042] 其中：D为血清样本中免疫球蛋白的浓度；

- [0043] ΔA 为以空白管吸光度为对照的样本管吸光度,通过公式二计算:
- [0044] $\Delta A = (A_2 - A_1) - (B_2 - B_1)$
- [0045] ΔA_s 为以空白管吸光度为对照的已测标准样品吸光度,通过公式三计算:
- [0046] $\Delta A_s = (A_2' - A_1') - (B_2 - B_1)$
- [0047] C为已测标准样品中免疫球蛋白的浓度。

专利名称(译)	一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法		
公开(公告)号	CN109142741A	公开(公告)日	2019-01-04
申请号	CN201810773641.9	申请日	2018-07-15
[标]发明人	郭惠芳		
发明人	郭惠芳		
IPC分类号	G01N33/68 G01N21/31 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/6854 G01N21/31 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫球蛋白含量检测试剂及其制备方法，其特征在于包括样品缓冲液、孵育缓冲液、上样缓冲液和免疫球蛋白检定缓冲液；具有灵敏度高、抗干扰能力强及经济实用等特点，可广泛应用于医药卫生及卫生防疫等领域，为深入的进行分子生物学，分子肿瘤学、细胞生物学、生物化学等学科的研究提供了有益的帮助。